

本文引用:罗宗婷,庞书勤,周建,陈芳,洪雪珮,陈锦秀,葛莉,戴燕铃,李霞,王雅立.薯蓣粥对2型糖尿病大鼠肝脏糖异生的影响[J].湖南中医药大学学报,2021,41(1):46-52.

## 薯蓣粥对2型糖尿病大鼠肝脏糖异生的影响

罗宗婷,庞书勤\*,周建,陈芳,洪雪珮,陈锦秀,葛莉,戴燕铃,李霞,王雅立  
(福建中医药大学护理学院,福建福州350122)

**[摘要]** 目的 观察薯蓣粥对2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)大鼠磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G6Pase)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和脂联素(adiponectin, APN)等与肝脏糖异生相关指标的变化,从肝脏糖异生角度探讨薯蓣粥的降糖机制,为薯蓣粥的临床应用提供科学依据。**方法** 60只Wistar大鼠随机分为空白组10只和造模组50只。造模组采用高糖高脂饲料联合腹腔注射小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)制备T2DM大鼠模型,将造模成功的40只大鼠随机分为模型组、薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组,各组10只。每组给予相应药物连续灌胃给药6周后,全自动生化分析仪检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG);ELISA检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP和APN含量;RT-qPCR检测PEPCK和G6Pase基因(mRNA)表达;免疫组化检测PEPCK和G6Pase蛋白表达。**结果** 与空白组比较,模型组大鼠FBG显著升高( $P<0.01$ );血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平上升,APN水平下降( $P<0.01$ );肝组织PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白表达均增加( $P<0.01$ )。与模型组比较,薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组FBG显著降低( $P<0.01$ );血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平下降,APN水平上升( $P<0.05$ );肝组织PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白表达均减少( $P<0.01$ );且联合治疗组较薯蓣粥组应用效果更优( $P<0.05$ )。**结论** 薯蓣粥能够降低T2DM大鼠FBG水平,其作用机制可能与下调T2DM大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平和上调APN水平,进而减少肝组织PEPCK、G6Pase mRNA及蛋白的表达,减弱肝脏糖异生有关。

**[关键词]** 2型糖尿病;肝脏糖异生;薯蓣粥;空腹血糖

**[中图分类号]** R285.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.01.009

### Effects of Yam Gruel on Hepatic Gluconeogenesis of Type 2 Diabetic Rats

LUO Zongting, PANG Shuqin\*, ZHOU Jian, CHEN Fang, HONG Xuepei, CHEN Jinxiu, GE Li,  
DAI Yanling, LI Xia, WANG Yali

(School of Nursing, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of yam gruel on phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK), glucose-6-phosphatase (G6Pase), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6), C-reactive protein (CRP), adiponectin (APN) and other indicators related to hepatic gluconeogenesis in rats with type 2 diabetes (T2DM), and to explore the hypoglycemic mechanism of yam gruel from the perspective of hepatic gluconeogenesis, so as to provide a scientific basis for the clinical application of yam gruel. **Methods** 60 Wistar rats were randomly divided into the control group ( $n=10$ ) and model groups ( $n=50$ ). Rats in model groups were fed with high-sugar/high-fat diet, and combined with an intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin (STZ) to

**[收稿日期]** 2020-06-02

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81904269);福建省自然科学基金项目(2017J01833);福建中医药大学2019年校管课题护理学科开放课题(X2019040-学科)。

**[作者简介]** 罗宗婷,女,在读硕士研究生,研究方向:老年护理研究。

**[通讯作者]** \*庞书勤,女,教授,硕士研究生导师, E-mail: pang\_shuqin@aliyun.com。

induce T2DM rats model. T2DM rats were selected and randomly divided into the model group, the yam gruel group, the metformin group, and the combined treatment group. Ten rats in each group. After 6 weeks of continuous gavage of the corresponding drug in each group, an automatic biochemical analyzer was used to detect fasting blood glucose (FBG) levels. ELISA kits were used to detect the concentrations of serum TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP and APN. The mRNA expressions of PEPCK and G6Pase were detected by RT-qPCR. The protein expressions of PEPCK and G6Pase were detected by immunohistochemical.

**Results** Compared with the control group, the FBG levels in the model group were significantly increased ( $P<0.01$ ), the serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and CRP were increased while the serum levels of APN were decreased in the model group ( $P<0.01$ ), both mRNA and protein levels of PEPCK and G6Pase in the liver tissues were significantly elevated in the model group ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the FBG levels were significantly decreased in the yam gruel group, the metformin group and the combined treatment group ( $P<0.01$ ), the serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and CRP were decreased, while the serum levels of APN were increased in the yam gruel group, the metformin group and the combined treatment group ( $P<0.05$ ), both mRNA and protein levels of PEPCK and G6Pase in the liver tissues were significantly decreased in the yam gruel group, the metformin group and the combined treatment group ( $P<0.01$ ). And the combined treatment group showed better efficacy than the yam gruel group ( $P<0.01$ ).

**Conclusion** Yam gruel has an effect on lowering FBG in T2DM rats, and its mechanism may be related to the down-regulation of serum TNF- $\alpha$ , IL-6, CRP, and the up-regulation of APN levels in T2DM rats, and then reducing the expressions of mRNA and protein levels of PEPCK and G6pase to inhibit excessive hepatic gluconeogenesis.

[**Keywords**] type 2 diabetes; hepatic gluconeogenesis; yam gruel; fasting blood glucose

糖尿病是当前威胁人类健康最主要的慢性非传染性疾病之一。据国际糖尿病联盟统计,2019年全球糖尿病患者达4.63亿,中国糖尿病患者约1.16亿,其中2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)所占比例超过90%<sup>[1-2]</sup>。T2DM发病率高,并发症多而重,给患者、家庭及社会带来沉重的经济负担和照护负担<sup>[3-5]</sup>。糖代谢紊乱是T2DM重要的病理基础,其中肝脏糖异生增强是其最明显的特点<sup>[6]</sup>。已有文献报道,T2DM患者及模型动物体内普遍存在肝脏过度糖异生<sup>[7-8]</sup>。肝脏糖异生异常活跃时,肝糖输出量急剧增加,导致FBG升高。最新研究发现,肠道菌群的变化与肝脏糖异生密切相关<sup>[9]</sup>。在T2DM患者及模型动物中,肠道益生菌相对丰度下降,血清炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等释放增加,通过PI3K/Akt/FoxO1或AMPK途径直接促进糖异生关键酶PEPCK和G6Pase的表达,使肝脏糖异生增强<sup>[10-11]</sup>。可见,从肠道菌群的角度干预肝脏糖异生将成为T2DM防治的新靶点。

饮食是肠道菌群结构的主要影响因素之一<sup>[12]</sup>,同时也是糖尿病管理最为重要的基础措施。中医药膳是特殊的饮食干预,具有药食同源的双重疗效。薯蕷粥是张锡纯所著《医学衷中参西录》中的经典药膳

方<sup>[13]</sup>,课题组前期研究显示,薯蕷粥能够促进T2DM患者及大鼠模型肠道内双歧杆菌的生长、增加短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)的含量,降低血糖水平<sup>[14-16]</sup>,但其具体降糖机制尚不清楚。本研究在前期研究基础上,观察薯蕷粥对T2DM大鼠肝脏糖异生关键酶(PEPCK、G6Pase)mRNA、蛋白及TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、脂联素(adiponectin, APN)和空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)的影响,进一步分析其降糖机制,为薯蕷粥的临床应用及推广提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康雄性Wistar大鼠60只,SPF级,体质量(150 $\pm$ 10)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,饲养于福建中医药大学实验动物中心[许可证号:SYXK(闽)2014-0005],每笼5只,每日交替照明12h,室温为(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度保持55% $\pm$ 5%。普通饲料由福建中医药大学动物实验中心提供;高脂高糖饲料(配方如下:10.0%猪油、15.0%蔗糖、4%胆固醇、10%蛋黄粉、0.3%胆酸盐、60.7%基础饲料)由闽侯吴氏实验动物贸易有限公司提供,辐照后使用。

### 1.2 药材及主要试剂

生怀山药由课题组人员从河南焦作订购,经福

建中医药大学药学院专家鉴定,整个实验过程中使用的生怀山药的量一次性购买后放置冰箱冷藏保存。STZ(美国 Sigma 公司);柠檬酸、柠檬酸钠(国药集团化学试剂有限公司);盐酸二甲双胍(中美上海施贵宝制药有限公司);PEPCK 抗体(Immunoway 公司);G6Pase 抗体(Sabbiotech 公司);DNA 提取试剂盒, TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 酶联免疫试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司)。

### 1.3 主要仪器

九阳多功能料理机(九阳股份有限公司); AU5811 全自动生化分析仪(美国贝克曼公司);脱水机(深圳达科为医疗科技有限公司);病理切片机(深圳达科为医疗科技有限公司);DNA 扩增仪(美国 ABI 公司);荧光定量 PCR 仪(澳大利亚 Corbett 公司);ELX808 型酶联免疫检测仪(美国 BIO-TEK 公司)。

### 1.4 造模及干预

**1.4.1 动物造模及分组** 60 只大鼠适应性喂养 1 周后,随机选取 10 只作为空白组,给予普通饲料喂养;其余 50 只作为造模组,给予高脂高糖饲料喂养。6 周后禁食过夜,次日清晨用电子天平称量大鼠体质量,造模组以 25 mg/kg 的剂量,腹腔注射 2 次 1%STZ 溶液(间隔 2 d);空白组同步腹腔注射相同剂量的柠檬酸缓冲液。注射 72 h 后,经尾静脉采血,以非同日 2 次 FBG $\geq$ 11.1 mmol/L 为 T2DM 大鼠成模标准<sup>[17]</sup>。

本次研究造模成功 40 只,成模率为 80%。造模成功的大鼠再根据最后一次 FBG 值的高低进行编号,采用随机数字表法随机分为模型组、薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组,每组 10 只。

**1.4.2 薯蓣粥的制备** 参照《医学衷中参西录》中薯蓣粥的制作方法,并结合前期研究用量制备薯蓣粥<sup>[13-14]</sup>。每日取上述生怀山药 150 g,去皮后剩下 125 g,切片、入料理机,加水 50 mL 打成糊,250 mL 凉水调入,中火煮沸,30 s 后再文火煮沸,后再间隔 30 s,连煮 3 次,过程中不间断地轻轻搅拌,最后成粥 250 mL,薯蓣浓度为 0.5 g/mL,冷却至 37  $^{\circ}$ C 使用。

**1.4.3 干预方法** 干预期间,各组大鼠均以普通饲料饲养,自由进食、饮水,每日早上 9 时灌胃 1 次,持

续给药 6 周。空白组和模型组给予生理盐水灌胃,薯蓣粥组给予薯蓣粥灌胃,二甲双胍组给予二甲双胍药液灌胃,联合治疗组给予薯蓣粥与二甲双胍混合物灌胃,灌胃剂量为 15 mL/(kg $\cdot$ d)。其中,大鼠二甲双胍给药量按照 100 mg/(kg $\cdot$ d)计算<sup>[18]</sup>。

### 1.5 标本采集

灌胃 6 周结束后,大鼠禁食不禁水 12 h,2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,用真空采血管抽取各组大鼠腹主动脉血 10 mL,一份保留全血用于 FBG 检测,一份离心后取血清于-80  $^{\circ}$ C 保存,用于 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 检测。取血后,迅速用无菌手术刀解剖大鼠,取肝脏组织 100~200 mg,用 4  $^{\circ}$ C 磷酸盐缓冲液冰上漂洗 3 遍,无菌滤纸吸干后,一份放入做好标记的 1.5 mL EP 管,投入液氮中速冻,再转移至-80  $^{\circ}$ C 冰箱保存,用于 PEPCK、G6Pase mRNA 检测;一份固定于 4%多聚甲醛溶液,用于 PEPCK、G6Pase 蛋白检测。

### 1.6 指标检测

**1.6.1 PEPCK、G6Pase mRNA 检测** RT-qPCR 检测肝脏组织中 PEPCK、G6Pase mRNA 的相对表达量。从-80  $^{\circ}$ C 冰箱取出冻存的肝脏组织,研磨溶解后根据 RNA 提取试剂盒说明,提取样本总 RNA,并对其浓度和纯度的检测。在 NCBI 数据库内查找大鼠 PEPCK mRNA 序列和 G6Pase mRNA 序列,运用 Primer Premier 5.0 设计目标基因和内参基因的特异性引物, Oligo 6.0 检验其特异性,引物序列见表 1。根据反转录试剂盒说明,合成 cDNA 第一链;采用 7500 实时荧光定量 PCR 系统进行定量 PCR 的扩增和检测,RT-qPCR 反应条件如下:94  $^{\circ}$ C 预变性 30 s,94  $^{\circ}$ C 变性 5 s,60  $^{\circ}$ C 退火延伸 34 s,共 40 个循环。记录各样本及 GAPDH CT 值,采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  方法计算基因相对表达量。

表 1 引物序列

引物	序列
PEPCK-F	5'-TCGGACACTACCTGGAACAC-3'
PEPCK-R	5'-TCCTGTTGACTTGCCTCTGT-3'
G6pase-F	5'-TGGTTACTTCTACTCTCGTATCTT-3'
G6pase-R	5'-TCTGGAGGCTGGCATTGTA-3'
GAPDH-F	5'-ACGGCAAGTTCAACGGCACAG-3'
GAPDH-R	5'-GAAGACGCCAGTAGACTCCACGAC-3'

1.6.2 PEPCK、G6Pase 蛋白检测 免疫组化检测肝脏组织中 PEPCK、G6Pase 蛋白的相对表达量。操作步骤具体如下:肝脏组织经 4%多聚甲醛固定后→包埋、切片→石蜡切片脱蜡至水→抗原修复(柠檬酸抗原修复缓冲液 pH 6.0, 高压沸腾 2 min)→阻断内源性过氧化物酶(3%过氧化氢溶液, 室温避光孵育 25 min)→血清封闭(3% BSA, 室温封闭 30 min)→加一抗(PEPCK 和 G6Pase 的稀释比例均为 1:100, 4 ℃孵育过夜)→加二抗(HRP 标记, 室温孵育 50 min)→DAB 显色(阳性为棕黄色)→复染细胞核(苏木素复染 3 min)→脱水封片→采集图像并用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行分析, 计算阳性细胞表达率。

1.6.3 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 检测 参照 ELISA 试剂盒说明书, 采用全自动酶标仪检测各组大鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 含量。

1.6.4 FBG 检测 采用全自动生化分析仪测各组大鼠 FBG 水平。

## 1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计学软件进行分析。以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示计量资料结果。多组间比较, 数据符合正态分布采用单因素方差分析, 进一步两两比较时, 方差齐采用 LSD 检测, 方差不齐采用 Dunnett's T3 检测, 不符合正态分布采用秩和检验。检验设定为  $P<0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠一般情况比较

在继续饲养及给药过程中, 空白组大鼠毛发白

净有光泽, 自主活动正常; 其他各组大鼠体形消瘦, 精神萎靡、自主活动减少, 毛发脏乱、发黄, 摄食量、饮水量及尿液/粪便排出量均显著增加。

### 2.2 各组大鼠 FBG 比较

灌胃 6 周后, 与空白组比较, 模型组大鼠 FBG 显著升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组大鼠 FBG 显著降低 ( $P<0.01$ ); 且联合治疗组大鼠 FBG 较薯蓣粥组降低更加明显 ( $P<0.01$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠 FBG 比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	FBG/(mmol·L <sup>-1</sup> )
空白组	5.10±0.59
模型组	21.95±2.33**
薯蓣粥组	12.88±1.45 <sup>#</sup>
二甲双胍组	11.55±0.86 <sup>#</sup>
联合治疗组	9.43±0.95 <sup>#△△</sup>
F 值	201.893
P 值	0.000

注: 与空白组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.01$ ; 与薯蓣粥组比较, <sup>△△</sup> $P<0.01$

### 2.3 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 比较

灌胃 6 周后, 与空白组比较, 模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 水平显著上升 ( $P<0.01$ ), APN 水平明显下降 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 水平有效降低, 同时 APN 水平被升高 ( $P<0.05$ ); 且联合治疗组较薯蓣粥组应用效果更优 ( $P<0.05$ )。见表 3。

### 2.4 各组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase mRNA 比较

灌胃 6 周后, 与空白组比较, 模型组大鼠肝组织

表 3 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP、APN 比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> )	CRP/(pg·mL <sup>-1</sup> )	APN/(ng·mL <sup>-1</sup> )
空白组	18.76±2.26	15.52±2.23	5.01±0.79	7.87±0.88
模型组	27.38±5.33**	26.03±3.04**	7.44±0.44**	5.50±1.27**
薯蓣粥组	23.91±2.77 <sup>#</sup>	22.31±3.68 <sup>#</sup>	6.71±0.22 <sup>#</sup>	6.89±1.33 <sup>#</sup>
二甲双胍组	23.50±3.71 <sup>#</sup>	22.75±2.83 <sup>#</sup>	6.56±0.22 <sup>#</sup>	6.73±1.28 <sup>#</sup>
联合治疗组	19.85±3.45 <sup>#△△</sup>	18.55±1.51 <sup>#△△</sup>	5.60±0.53 <sup>#△△</sup>	8.07±1.12 <sup>#△△</sup>
F 值	8.898	21.695	38.472	7.480
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与空白组比较, \*\* $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ , <sup>#</sup> $P<0.01$ ; 与薯蓣粥组比较, <sup>△</sup> $P<0.05$ , <sup>△△</sup> $P<0.01$

PEPCK、G6Pase mRNA 表达水平显著上升( $P<0.01$ );与模型组比较,薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase mRNA 表达水平均降低( $P<0.01$ );且联合治疗组、二甲双胍组大鼠 PEPCK、G6Pase mRNA 表达水平较薯蓣粥组更低( $P<0.01$ )。见表 4。

表 4 各组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase mRNA 比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	PEPCK mRNA	G6Pase mRNA
空白组	1.04±0.05	0.96±0.08
模型组	6.36±0.34**	7.08±0.25**
薯蓣粥组	4.61±0.18 <sup>#</sup>	5.20±0.13 <sup>#</sup>
二甲双胍组	2.82±0.17 <sup>#△△</sup>	4.54±0.16 <sup>#△△</sup>
联合治疗组	2.26±0.48 <sup>#△△</sup>	3.31±1.01 <sup>#△△</sup>
F 值	528.411	228.637
P 值	0.000	0.000

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.01$ ;与薯蓣粥组比较,<sup>△△</sup> $P<0.01$

### 2.5 各组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase 蛋白比较

灌胃 6 周后,与空白组比较,模型组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase 蛋白表达水平显著上升( $P<0.01$ );与模型组比较,薯蓣粥组、二甲双胍组和联合治疗组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase 蛋白表达水平显著下降( $P<0.01$ );且联合治疗组大鼠 PEPCK、G6Pase 蛋白表达水平较薯蓣粥组更低( $P<0.05$ )。见表 5,图 1。

## 3 讨论

炎症反应参与了 T2DM 及其并发症的发生发展过程<sup>[19]</sup>。2016 年的一项系统评价显示<sup>[20]</sup>,TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 水平的异常升高及 APN 水平的异常减少可增加 T2DM 发生的风险。本实验结果显示,薯蓣粥

表 5 各组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase 蛋白比较( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	PEPCK	G6Pase
空白组	42.99±4.05	41.50±3.58
模型组	74.98±5.59**	71.31±5.17**
薯蓣粥组	66.73±1.64 <sup>#</sup>	63.90±2.20 <sup>#</sup>
二甲双胍组	63.99±2.65 <sup>#</sup>	63.49±2.68 <sup>#</sup>
联合治疗组	60.28±4.92 <sup>#△</sup>	57.99±3.74 <sup>#△△</sup>
F 值	51.409	57.298
P 值	0.000	0.000

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.01$ ;与薯蓣粥组比较,<sup>△△</sup> $P<0.01$

的干预能够降低 T2DM 大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 水平,升高 APN 水平,并且与二甲双胍药物联合应用时效果更优。薯蓣粥是经典药膳方,组成为一味生怀山药。课题组前期实验及多项研究证明<sup>[14-16,21-22]</sup>,山药干预具有调节肠道菌群的作用。益生菌及其代谢产物 SCFAs 已被证实能够减少 TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP 等炎症因子的释放<sup>[23-24]</sup>。另外,蒋岚等<sup>[25]</sup>临床试验发现,在应用二甲双胍和阿卡波糖的基础上,补充益生菌治疗 6 周显著提高了 T2DM 患者血清 APN 浓度。可见,薯蓣粥可能通过调节肠道益生菌参与炎症反应的缓解过程。同时有研究表明,二甲双胍能减少炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达,在一定程度上发挥抗炎作用<sup>[26]</sup>。因此,薯蓣粥与二甲双胍结合应用时,抗炎作用将进一步加强;而且更加符合临床 T2DM 患者在服药的基础上辅助食用薯蓣粥这一实际情况。

肝脏糖异生是机体葡萄糖利用及重大器官供能的主要来源。但是在 T2DM 等病理情况下,肝脏糖异生增强,血糖浓度升高。而 PEPCK 和 G6Pase 是肝脏

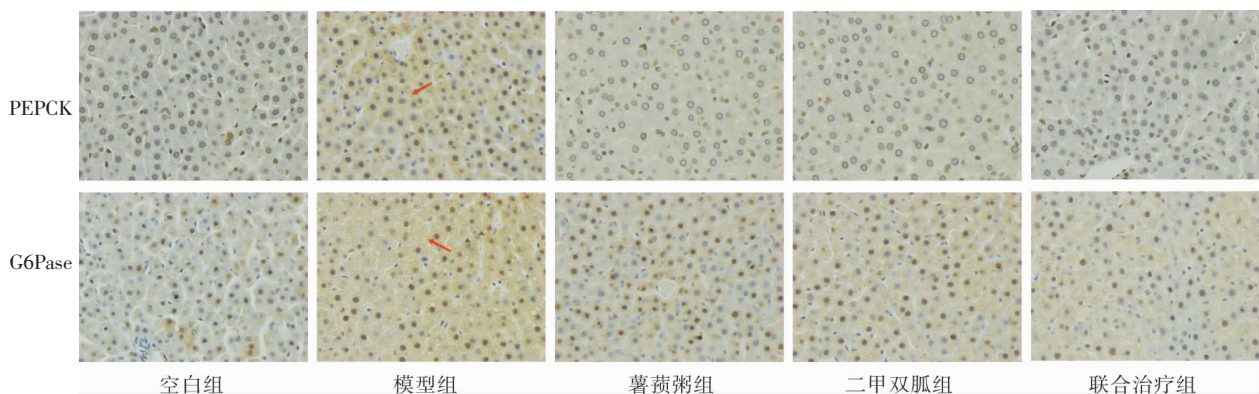


图 1 各组大鼠肝组织 PEPCK、G6Pase 蛋白表达比较(免疫组化,×400)

糖异生的2个关键性限速酶<sup>[27]</sup>,PEPCK和G6Pase过度表达会使肝脏糖异生的速度加快,促进肝葡萄糖的输出量提高。本实验结果显示,薯蕷粥的干预能显著降低肝组织PEPCK、G6Pase的基因和蛋白表达水平,且配合二甲双胍药物干预时降低更明显。分析原因可能与下调了T2DM大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平和上调APN水平有关。可能机制<sup>[10-11]</sup>:(1)TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP等炎症因子的增加会干扰IRS信号转导通路,抑制PI3K和Akt的磷酸化,进一步降低Fox-O1蛋白磷酸化水平,从而上调PEPCK和G6Pase的表达,导致肝脏过度糖异生。(2)TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平上升和APN水平下降均可降低AMPK活性,进而增加PEPCK和G6Pase的表达量,使肝脏糖异生增强。2018年的一项动物研究发现<sup>[28]</sup>,药用植物可能通过缓解炎症反应对肝脏糖异生起到抑制作用。T2DM的常用药物二甲双胍亦以抑制肝脏糖异生为其主要降糖机制<sup>[29]</sup>。薯蕷粥由药食两用的生怀山药熬制而成,当与二甲双胍联合治疗时,将协同增强其抑制肝脏过度糖异生的能力。

降低FBG是T2DM的主要治疗目标之一。本实验结果显示,薯蕷粥干预6周能够有效降低FBG,这与周建<sup>[30]</sup>、陈芳<sup>[14]</sup>研究结果相一致。薯蕷粥仅由一味山药熬制而成,山药及其各药理成分在调节糖代谢异常中被广泛应用与研究。实验发现<sup>[31]</sup>,山药提取物薯蕷皂苷以60 mg/kg的剂量连续干预8周能够明显降低T2DM出现的高血糖,进一步探讨,其分子机制与下调PEPCK、G6Pase的基因表达水平有关。该结论为山药以肝脏糖异生为作用靶点发挥降糖作用提供了可能。上述实验也反应出薯蕷粥的潜在优势,本研究薯蕷粥组每只大鼠每日灌胃薯蕷粥5 mL(含生怀山药2.5 g)即可下调PEPCK、G6Pase蛋白的表达,降低FBG水平。可能因为薯蕷粥提供的是山药中的多种成分,多种成分之间存在相辅相成的叠加效果,有待于今后分析薯蕷粥的有效成分、做进一步研究。二甲双胍作为治疗T2DM的一线药物,也被发现能够通过下调PEPCK和G6Pase的表达,降低血糖水平<sup>[29]</sup>。以上研究均提示,抑制肝脏过度糖异生有助于降低FBG。薯蕷粥与二甲双胍

均对肝脏过度糖异生具有抑制作用,联合使用将使FBG下降程度更加明显。

综上所述,本实验研究表明,小剂量薯蕷粥连续干预6周即可有效降低T2DM大鼠FBG水平,并且推断其机制可能与下调T2DM大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平和上调APN水平,进而减少肝组织PEPCK、G6Pase的基因和蛋白表达,抑制肝脏糖异生有关。同时发现,薯蕷粥联合二甲双胍药物可协同增强其降糖作用,符合临床T2DM患者在服用二甲双胍等降糖药的基础上辅助食用薯蕷粥的实际情况,为薯蕷粥更好的临床应用与推广提供了实验依据。

## 参考文献

- [1] International Diabetes Federation. IDF diabetes atlas 9th edition (2019)[EB/OL].(2019-12-01)[2020-02-18]<https://diabetesatlas.org/en/>.
- [2] CHO N H, SHAW J E, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2018, 138: 271-281.
- [3] HARDING J L, PAVKOV M E, MAGLIANO D J, et al. Global trends in diabetes complications: A review of current evidence[J]. Diabetologia, 2019, 62(1): 3-16.
- [4] CHAPMAN D, FOXCROFT R, DALE-HARRIS L, et al. Insights for care: The healthcare utilisation and cost impact of managing type 2 diabetes-associated microvascular complications[J]. Diabetes Therapy, 2019, 10(2): 575-585.
- [5] MENG J, CASCIANO R, LEE Y C, et al. Effect of diabetes treatment-related attributes on costs to type 2 diabetes patients in a real-world population[J]. Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy, 2017, 23(4): 446-452.
- [6] 郑铁生,鄢盛恺.临床生物化学检验[M].3版.北京:中国医药科技出版社,2015:111-132.
- [7] 王春怡,高颖,李艳,等.黄芪散有效部位群对II型糖尿病大鼠肝糖原及糖异生酶的影响[J].中药新药与临床药理,2018,29(1):1-7.
- [8] 陈亚琼,王鹏飞,刘焜.基于肝糖异生的降血糖药物研发进展[J].药学进展,2017,41(10):733-741.
- [9] HU T G, WEN P, SHEN W Z, et al. Effect of 1-deoxynojirimycin isolated from mulberry leaves on glucose metabolism and gut microbiota in a streptozotocin-induced diabetic mouse model[J]. Journal of Natural Products, 2019, 82(8): 2189-2200.
- [10] 宗久榆,孙蕊心,于敏.脂肪组织对糖异生的调控作用[J].生命的

- 化学,2017,37(5):842-848.
- [11] 罗旋,谭伟,刘军,等.慢性炎症加重肥胖小鼠肝糖代谢紊乱机制初探[J].重庆医科大学学报,2017,42(7):855-859.
- [12] 聂启兴,胡婕伦,钟亚东,等.几类不同食物对肠道菌群调节作用的研究进展[J].食品科学,2019,40(11):321-330.
- [13] 张锡纯.医学衷中参西录合订本[M].石家庄:河北人民出版社,1977:73-74.
- [14] 陈芳.从肠道益生菌-IL-10/START3 通路探讨薯蓣粥对 T2DM 大鼠的降糖机制[D].福州:福建中医药大学,2019.
- [15] 卢桢好.薯蓣粥对 T2DM 大鼠肠道内短链脂肪酸、脂多糖的影响[D].福州:福建中医药大学,2018.
- [16] 庞书勤,辛惠明,刘玲玉,等.薯蓣粥对 2 型糖尿病肠道内双歧杆菌及血糖影响研究[J].中国实用内科杂志,2017,37(3):247-250.
- [17] 李才.人类疾病动物模型的复制[M].北京:人民卫生出版社,2008:350-354.
- [18] 徐淑云,卞如镰,陈修.药理实验方法学第四版[M].北京:人民卫生出版社,2006:1861.
- [19] VERMA S, MATHEW V, FARKOUH M E. Targeting inflammation in the prevention and treatment of type 2 diabetes: Insights from CANTOS [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2018, 71(21): 2402-2404.
- [20] LIU C X, FENG X, LI Q, et al. Adiponectin, TNF- $\alpha$  and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis[J]. *Cytokine*, 2016, 86: 100-109.
- [21] SUN Y P, LIU T, SI Y P, et al. Integrated metabolomics and 16S rRNA sequencing to investigate the regulation of Chinese yam on antibiotic-induced intestinal dysbiosis in rats[J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2019, 47 (1): 3382-3390.
- [22] ZHANG N, LIANG T S, JIN Q, et al. Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) alleviates antibiotic-associated diarrhea, modifies intestinal microbiota, and increases the level of short-chain fatty acids in mice[J]. *Food Research International*, 2019, 122: 191-198.
- [23] KIM Y A, KEOGH J B, CLIFTON P M. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2018, 31(1): 35-51.
- [24] LI M, VAN ESCH B C A M, HENRICKS P A J, et al. The anti-inflammatory effects of short chain fatty acids on lipopolysaccharide-or tumor necrosis factor  $\alpha$ -stimulated endothelial cells via activation of GPR41/43 and inhibition of HDACs[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 533.
- [25] 蒋岚,陈果,高陈林,等.益生菌对 T2DM 患者肠道菌群和脂联素的影响[J].中国现代医学杂志,2018,28(11):84-87.
- [26] 刘超,高慧婕,杨强强,等.二甲双胍对脂多糖致炎性反应小鼠的抗炎作用[J].基础医学与临床,2019,39(9):1248-1251.
- [27] 陈金成,张吟. AMPK 与肝脏糖异生研究进展[J].中国现代应用药学,2017,34(7):1062-1067.
- [28] LIU Q L, ZHANG L Y, ZHANG W, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B reduces renal inflammation and expression of PEPCK in type 2 diabetic mice[J]. *Inflammation*, 2018, 41(6): 2018-2029.
- [29] 苏青.二甲双胍降糖作用的分子机制[J].中华内分泌代谢杂志,2016,32(9):716-722.
- [30] 周建.基于 AMPK 通路探讨薯蓣粥对 T2DM 大鼠胰腺自噬相关蛋白 LC3-II、p62 的影响[D].福州:福建中医药大学,2019.
- [31] XU L N, YIN L H, JIN Y, et al. Effect and possible mechanisms of dioscin on ameliorating metabolic glycolipid metabolic disorder in type-2-diabetes[J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153139.

(本文编辑 苏维)